



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa*
comparado con ampicilina sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 19118: en
un estudio *in vitro*

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

AUTOR:

Key Samir Auma Cusilaime (ORCID: 0000 – 0002 – 0325 - 7106)

ASESORES:

Mgtr. Jaime Abelardo Polo Gamboa (ORCID: 0000 - 0002 - 3768 - 8051)

Mgtr. José Luis Fernández Sosaya (ORCID: 0000 - 0002 - 8232 - 6367)

Dr. Aníbal Manuel Morillo Arqueros (ORCID: 0000 – 0001 - 5179 - 8110)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

Trujillo – Perú

2020

DEDICATORIA

*A mi madre por su amor y apoyo incondicional
A mi padre por inculcarme los valores y principios
éticos de la vida, a los dos por el gran sacrificio,
apoyo abnegado a lo largo de estos años. Por
haberme formado con reglas, libertades y
soportarme todas las pillerías que pude cometer.*

*A mis hermanas, Karol y Sdenka, decirles
que son unas hermosas mujeres, a pesar de no
haber estado a su lado para guiarlas, supieron
comprenderme y confiaron en mí; gracias.*

*A mis familiares que a pesar de
la distancia, me hicieron sentir
su apoyo y saber que esperaban
mucho de mí.*

AGRADECIMIENTO

A:

Dios, por alumbrar mi camino, no desampararme y darme la sensatez para elegir buenas decisiones.

Mis amigos, por hacerme sentir parte de su familia, confiar en mi y hacerme conocer mis errores.

Mis asesores por haberme apoyado en la elaboración de este trabajo, con su ayuda pude avanzar un paso más en mi vida profesional.

Todas las personas que en cada etapa de mi vida pude conocer y me supieron confiar sus experiencias, aprendí mucho de ellas.

Todos los maestros que pude tener en toda mi etapa de estudiante, por sus conocimientos compartidos y su empeño en brindarnos lo mejor de ellos.

La vida, las carencias que pude tener, experiencias buenas y malas, momentos duros que pude pasar, a todo ello, porque siempre te dejan cosas por aprender y deseos de superarse.

PÁGINA DEL JURADO



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

JORNADA DE INVESTIGACIÓN

ACTA DE SUSTENTACIÓN

El Jurado encargado de evaluar el Trabajo de Investigación, PRESENTADO EN LA MODALIDAD DE: Desarrollo del Proyecto de Investigación.

Presentado por don (a)

Key Samir Auma Cusilaine

Cuyo Título es

Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de Uncaria tomentosa comparado con ampicilina sobre Listeria monocytogenes ATCC 1911B: en un estudio in vitro

Reunido en la fecha, escuchó la presentación y la resolución de preguntas por el estudiante, otorgándole el calificativo de: *16* (número) *Dieciséis* (letras).

Trujillo *13* de *MARZO* del 2020

Mgtr. Roxana Elizabeth Ramirez Reyes
PRESIDENTE

Mgtr. Víctor Darío Morillo Arqueros
SECRETARIO

Mgtr. David Rene Rodriguez Diaz
VOCAL

NOTA: En el caso de que haya nuevas observaciones en le informe, el estudiante debe levantar las observaciones para dar el pase a Resolución.

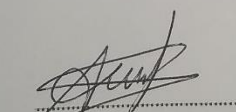
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Key Samir Alma Cirilaime estudiante de la escuela
Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo,
sede filial Troyillo; declaro que el trabajo académico titulado
Gracia antileishmanica del extracto etanólico de *Crinia temminckii* con respecto
con la ampicilina sobre la *Leishmania mexicana* ATCC 19116 en sus células
presentada, en 12 folios para la obtención del grado académico/título profesional de
Medico Cirujano es de mi autoría.

Por lo tanto, declaro lo siguiente:

- He mencionado todas las fuentes empleadas en el presente trabajo de investigación identificando correctamente toda la cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes, de acuerdo a lo establecido por las normas de elaboración de trabajo académico.
- No he utilizado ninguna fuente distinta de aquellas expresadamente señaladas en este trabajo.
- Este trabajo de investigación no ha sido previamente presentado completa ni parcialmente para la obtención de otro grado académico o título profesional.
- Soy consciente que mi trabajo puede ser revisado electrónicamente en búsqueda de plagios.
- De encontrar uso de material intelectual ajeno sin el debido reconocimiento de su fuente o autor, me someto a las sanciones que determinan el procedimiento disciplinario.

Lugar y fecha Troyillo, 13 de mayo del 2020



Firma

Nombres y Apellidos

DNI 70740130

Key Samir Alma Cirilaime

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
PÁGINA DEL JURADO	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.....	v
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MÉTODO	5
2.1. Diseño de Investigación.....	5
2.2 Variables y operacionalización	5
2.3 Población y muestra	7
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.	8
2.5 Métodos de análisis de datos	8
2.6 Aspectos Éticos	9
III. RESULTADOS	10
V. CONCLUSIONES	15
VI. RECOMENDACIONES	16
VII. REFERENCIAS	17
VIII. ANEXOS.....	22

RESUMEN

El presente trabajo se ejecutó con la finalidad de demostrar la efectividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* en contra de *Listeria monocytogenes* ATCC19118 comparado con la ampicilina mediante un estudio in vitro, para lo cual realizamos un trabajo de tipo experimental puro con post prueba y trece repeticiones. Se procedió a la preparación del extracto etanólico mediante maceración y utilizamos concentraciones al 100%, 75%, 25%, 15%, control positivo con ampicilina y un control negativo con dimetilsulfóxido. Se procedió a la evaluación mediante disco-difusión, incubamos las placas Petri a una temperatura de 37° por 24 horas y se procedió a leer los resultados midiendo el halo de inhibición de cada bacteria en las cuatro concentraciones utilizadas. La concentración al 100% llegó a tener una zona de inhibición del crecimiento bacteriano de 16.31 mm siendo la única en superar el punto corte de 16 mm (establecido por EUCAST). En el análisis estadístico empleamos la prueba de ANOVA, la cual resultó significativamente alta (0.000), las medias de todos los grupos fueron distintas según Tukey, siendo el de la ampicilina el que presentó mayor zona inhibitoria de crecimiento bacteriano seguido del extracto etanólico al 100% de concentración y el que menor zona inhibitoria presentó fue la concentración al 25%, llegando a observarse que, a mayor concentración, mayor será la eficacia antimicrobiana de la uña de gato sobre *Listeria monocytogenes*. Por lo cual concluimos que, si hay actividad antimicrobiana de la uña de gato, pudiendo emplearse como terapia farmacológica coadyuvante contra infecciones causadas por *L. monocytogenes*.

Palabras clave: *Listeria monocytogenes*, *Uncaria tomentosa*, uña de gato.

ABSTRACT

The present work was carried out with the purpose of demonstrating the antimicrobial efficacy of the ethanol extract of *Uncaria tomentosa* compared to ampicillin on *Listeria monocytogenes* ATCC19118 in an in vitro study, for which we carried out a pure experimental work with post-test and thirteen repetitions. We execute the preparation of the ethanolic extract of *Uncaria tomentosa* by means of the maceration method and use 100%, 75%, 25%, 15% concentrations, positive control with ampicillin and a negative control with dimethylsulfoxide. We made the evaluation by means of diffusion-disk, we incubated the petri dishes at a temperature of 37 ° for 24 hours and the results were read by measuring the inhibition halo of each bacterium in the four concentrations used. The 100% concentration came to measure an inhibition halo of 16.31 mm, so it was the only one to overcome the 16 mm cut-off point (established by EUCAST). The statistical analysis was by ANOVA which had a highly significant level (0.000), the Tukey test showed the groups were homogeneous, with the ampicillin group having the highest inhibition halo followed by the 100% concentration of the extract. ethanolic of the plant under study, observing that, the higher the concentration, the greater the antimicrobial efficacy of cat's claw on *Listeria monocytogenes*. Therefore, we conclude that, if there is antimicrobial activity of cat's claw, it can be used as an adjuvant drug therapy against infections caused by *L. monocytogenes*.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, *Uncaria tomentosa*, cat's claw.

I. INTRODUCCIÓN

Una de las infecciones más graves y raras que puede adquirir el ser humano a través de los alimentos, es causada por *Listeria monocytogenes*, reportándose por un millón de casos solo diez cada año, cifra que reporta la Organización Mundial de la Salud (OMS). Además, presenta un índice de mortalidad elevado en las personas infectadas (20%-30%), siendo las gestantes, niños, ancianos y los inmunodeprimidos un grupo susceptible de padecer esta infección mortal. Existen distintas investigaciones como las realizadas en salchicha huachana por Pérez et al², en queso fresco por Díaz³ y en canales de bovino por Riega⁴, todo esto con el objetivo de confirmar que *Listeria monocytogenes* está presente en los alimentos.^{1,2,3,4}

La terapia farmacológica usada para combatir la listeriosis según la OMS¹ es la ampicilina o el cotrimoxazol, pero a nivel preventivo, existe sensibilidad de la *Listeria monocytogenes* frente a los fitoquímicos en forma de extractos etanólicos, metanólicos, aceites esenciales, obtenidos de plantas medicinales como es el caso de *Uncaria tomentosa* conocida comúnmente como “uña de gato” por poseer efecto antimicrobiano, antimicótico, antiinflamatorio, antioxidante, inmunomodulador y citotóxico evidenciados en laboratorio por pruebas in vitro.^{5,6,7,8,9,10,11}

En nuestro país poseemos diversas plantas con acción curativa y se están empezando a investigar por diversas instituciones. Una de ellas es El Instituto de Recursos Naturales y Terapéuticos que encabeza la lista de todas las instituciones que están realizando este tipo de investigaciones. La uña de gato es una de las plantas que presenta una gran variedad de componentes farmacológicos activos; existen dos tipos de especies en nuestro país: *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*, las cuales crecen en la amazonia peruana, entre los 400 a 800 m.s.n.m, y fueron utilizadas por nuestros antepasados para combatir infecciones de piel, diversas inflamaciones, gastritis e irregularidades menstruales.^{12,13}

De todos los componentes de la uña de gato solo veintisiete son farmacológicamente activos para su uso antimicrobiano; entre los cuales podemos encontrar alcaloides, diferentes fitoesteroides, polifenoles, triptenos y procianidinas. Se comprobó su eficacia antimicrobiana en forma de extractos y aceites en contra de diferentes bacterias, en su gran mayoría fueron bacterias grampositivas, por cual se puede tener en cuenta como una terapia alternativa, eficaz y de precio accesible.^{14,15,16}

Navarro M. et al¹⁷ determinaron la capacidad antioxidante, antimicrobiana y sus compuestos de *Uncaria tomentosa* sobre bacterias grampositivas similares a *Listeria monocytogenes*, observando que existe capacidad antibacteriana de la planta en estudio sobre las bacterias; de igual manera Rojas J. et al¹⁸ evaluaron la eficacia antibacteriana de treinta y dos plantas dentro de las cuales se encontraba *Uncaria tomentosa* en contra de bacterias grampositivas; llegando a observar que el crecimiento bacteriano fue inhibido, concluyendo que *Uncaria tomentosa* posee capacidad antibacteriana.

Ccahuana RA. et al¹⁹ demostraron la actividad antibacteriana de *Uncaria tomentosa* en contra de bacterias seleccionadas; utilizaron diferentes concentraciones que demostraron que *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp*, *Staphylococcus spp* presentaron inhibición de su crecimiento; llegando a la conclusión que *Uncaria tomentosa* posee actividad antibacteriana; de forma similar Floreano ML²⁰, utilizó *Uncaria tomentosa* en forma de extracto para demostrar que el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* puede ser inhibido. Los resultados que obtuvo confirmaron la actividad antibacteriana en contra de *Staphylococcus aureus* y resistencia de *Escherichia coli*.

Tucto CE²¹, utilizó *Uncaria tomentosa* como extracto etanólico a diferentes concentraciones sobre *Listeria monocytogenes* con el objetivo de determinar su capacidad antimicrobiana; los resultados que obtuvo concluyen la existencia de acción antimicrobiana en contra de dicha bacteria. Todos estos estudios se realizaron porque todavía se sigue haciendo uso de la medicina tradicional a base de plantas medicinales; debido a la creencia de la población, su fácil acceso y por el sentir que mediante estas terapias los efectos secundarios serán menores.

En la actualidad los países desarrollados y en desarrollo tienen un interés por la medicina tradicional con el objetivo de investigar sus componentes ya que se fundamenta que los fitoquímicos que poseen las plantas medicinales tienen capacidad para combatir enfermedades como el cáncer, enfermedades reumatológicas, cardiovasculares, neurodegenerativas e infecciosas; además que las consideran medicinas rentables, económicas y con menor efectos secundarios.²²

No se encuentran muchos estudios realizados sobre *Listeria monocytogenes*, esto debido a la gran capacidad de sobrevivencia a diferentes condiciones como, por ejemplo: es capaz de soportar altas y bajas temperatura, pH ácidos, estrés oxidativo, además de la

cantidad de serotipo que existen, lo que hace tedioso el estudio a la hora del cultivo de la cepa. Se logró mediante estudios in vitro que alterando sus condiciones de crecimiento también se altera sus factores de virulencia por lo cual la hace susceptible, pero estos resultados pueden no ser de mucha ayuda ya que a pesar de que la persona puede tener un sistema inmunitario resistente, sin alteraciones, aun así, puede padecer de listeriosis humana invasiva, llevándolo incluso a la muerte.^{23,24,25}

Se justifica el presente trabajo con el objetivo de certificar mediante un estudio científico la medicina popular de nuestros antepasados demostrando las propiedades antimicrobianas de la *Uncaria tomentosa*, mediante el extracto etanólico ya que en nuestro país la medicina tradicional es una de las más utilizada y esto se debe a que cada región posee una riqueza inmensa en variedad de plantas medicinales que son utilizadas todos los días utilizadas por nuestra población, esas creencias persisten hasta el día de hoy, dado que sus efectos curativos son confirmados por nuestra población y sus efectos negativos son escasos o pasan desapercibidos, otro motivo más para su elección por la población.

Otra razón para la elección de la medicina tradicional por nuestra población es porque son fáciles de conseguir ya que muchas de ellas crecen en sus propios jardines, chacras o las pueden adquirir a precios económicos en su forma natural tal cual como la naturaleza nos la presenta y esto es algo importante ya que muchas veces para acudir a un centro de salud del estado se les hace difícil por la distancia que tienen que recorrer, el mal estado de las carreteras, las condiciones climatológicas desfavorables de cada zona, las condiciones económicas de cada familia, el maltrato y discriminación que reciben por su forma de vestir, hablar, por todo ello prefieren utilizar los recursos que les da la naturaleza.

La elección de la *Listeria monocytogenes* en este trabajo se da por su capacidad de adaptación y sobrevivencia a condiciones anteriormente mencionadas que para otro tipo de patógenos pudieran no ser favorables, por los escasos reporte de estudio y por la presencia de ésta en los alimentos procesados o en lugares que no cumplen con las condiciones apropiadas para la venta y el almacenado de alimentos como son nuestros mercados, que en su mayoría presenta deficiencias de salubridad, ya que muchos vendedores combinan alimentos en buen estado con otro que no lo están en un mismo lugar contribuyendo con la transmisión de la bacteria.

Por tal motivo nos planteamos el siguiente problema:

¿Posee eficacia antimicrobiana el extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* en comparación con la ampicilina sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 en un estudio in vitro?

Bajo esto, abordamos las siguientes hipótesis:

H1: El extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* posee eficacia antimicrobiana sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 en comparación con la ampicilina mediante un estudio in vitro.

H0: El extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* no posee eficacia antibacteriana sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 en comparación a la ampicilina mediante un estudio in vitro.

Y proponemos el siguiente objetivo general: evaluar la eficacia antimicrobiana del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* en comparación a la ampicilina sobre *Listeria monocytogenes* en un estudio in vitro y los siguientes objetivos específicos: a) establecer el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* al 100%, b) establecer el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* al 75%, c) establecer el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* al 50%, d) establecer el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* al 25%, e) establecer el efecto antimicrobiano de la ampicilina a la concentración de 10ug, f) establecer el efecto antimicrobiano del dimetilsulfóxido (DMSO).

II. MÉTODO

2.1. Diseño de Investigación

TIPO DE INVESTIGACIÓN: utilizaremos una de tipo básica.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: será un experimental puro que tendrá post prueba y múltiples repeticiones.

A continuación, el esquema de trabajo:

L ₁	E ₁	A ₁
L ₂	E ₂	A ₂
L ₃	E ₃	A ₃
L ₄	E ₄	A ₄
L ₅	E ₅	A ₅
L ₆	E ₆	A ₆

Dónde:

L₁ - 6: grupos que contienen *Listeria monocytogenes* ATCC19118

E₁: extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* al 100%

E₂: extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* al 75%

E₃: extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* al 50%

E₄: extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* al 25%

E₅: control negativo con dimetilsulfóxido

E₆: control positivo con ampicilina de 10ug

A₁ - 6: eficacia antimicrobiana (halo inhibitorio).

2.2 Variables y operacionalización

VARIABLE INDEPENDIENTE: agente antibacteriano

- No farmacológico: extracto etanólico de *Uncaria tomentosa*
- Farmacológico: ampicilina de 10ug.

VARIABLE DEPENDIENTE: efecto antibacteriano

- Eficacia: mayor halo inhibitorio de crecimiento bacteriano del extracto etanólico.
- No eficacia: menor halo inhibitorio de crecimiento bacteriano del extracto etanólico.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES:

VARIABLES			DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
INDEPENDIENTE	AGENTE ANTIBACTERIANO	Extracto etanólico de <i>Uncaria tomentosa</i>	Producto extraído de la maceración con alcohol etílico de la corteza de <i>Uncaria tomentosa</i> . ²⁶	se utilizó como solvente el dimetilsulfóxido en combinación con el extracto etanólico para la preparación de diferentes concentraciones	100% 75% 50% 25%	cualitativa nominal
		Ampicilina	es una penicilina que actúa a nivel de la pared celular, inhibiendo su síntesis.	será utilizada como control positivo	10ug	
DEPENDIENTE	EFECTO ANTIBACTERIANO	Cualidad que posee un agente frente a microorganismos patógenos pudiendo ser bacteriostático o bactericida. ²⁷		para la medición del halo de crecimiento se consideró los Breakpoint Tables v8.1 ²⁸ : eficaz o no eficaz.	eficacia: ≥ 16 mm	cualitativa nominal
					no eficacia: < 16 mm	

2.3 Población y muestra

POBLACIÓN:

Conformada por *Listeria monocytogenes* ATCC 19118, cuyas cepas fueron cultivadas en el laboratorio clínico “SAN JOSÉ”.

MUESTRA:

TAMAÑO MUESTRAL:

Se consideró la siguiente fórmula estadística de comparación de dos medias y valoración de la diferencia que existe entre ellas para seleccionar la muestra.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$$n = 12,4789 = 13 \text{ repeticiones}$$

Dónde:

- $Z_{\alpha/2} = 1,96$
- $Z_{\beta} = 0,84$
- $\bar{X}_1 = 16^{29}$
- $\bar{X}_2 = 14,3^{20}$
- $\sigma^2 = 2,3^{21}$

MUESTREO:

Por conveniencia se trabajó con toda cepa previamente cultivadas.

UNIDAD DE ANÁLISIS:

Cada cepa cultivada de *Listeria monocytogenes*.

UNIDAD DE MUESTREO:

Cada unidad formadora de colonias de *Listeria monocytogenes*.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Cepas de *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 que fueron sometidas entre 18 y 24 horas de cultivo.

Criterios de exclusión:

- Cepas de *Listeria monocytogenes* que no llegaron a crecer en el medio de cultivo.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.

LA TÉCNICA:

Mediante observación directa de las cepas cultivadas, localizadas en cada placa Petri.

PROCEDIMIENTO:

Se consideró los siguientes pasos:

1. Por medio de la empresa “Renacer SAC”, se logró adquirir la corteza de *Uncaria tomentosa*, la cual posee la garantía de identificación taxonómica. (ANEXO 1)
2. Se utilizó alcohol etílico de 96°³⁰ para la maceración de la corteza con el fin de extraer el extracto etanólico. Luego de esto, según el CLSI³¹ se procedió mediante disco difusión a la sensibilidad de *Listeria monocytogenes*. (ANEXO 2)
3. Se realizó el cultivo de *Listeria monocytogenes* en el medio agar Muller Hinton. (ANEXO 2)
4. Se tomó de referencia los valores del Breakpoint Tables v8.1 del EUCAST²⁸.

INSTRUMENTO

La recolección de nuestros datos fue escrita en tabla correctamente elaborada que detallaba el número de repetición de cada dilución y los halos inhibitorios.

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

Dos Microbiólogos y un médico cirujano con estudios en Medicina Complementaria estuvieron a cargo de validar la tabla que elaboramos para recolectar nuestros datos.

2.5 Métodos de análisis de datos

Tuvimos en cuenta los valores inhibitorios de crecimiento bacteriano obtenidos de cada concentración del extracto etanólico evaluado y del fármaco utilizado los cuales los recolectamos en nuestra tabla de datos y los procesamos en el programa SPSS, encontrando que los halos inhibitorios de la ampicilina y de las concentraciones al 100%, 75%, 50%, 25% son diferentes, siendo el grupo de la ampicilina el más alto (24.7 mm), seguido del extracto etanólico al 100% con una medida de (16.31 mm), al 75% con una

medida de (13.85mm), al 50% con una medida de (12.23 mm), al 25% con una medida de (8.77 mm). Para determinar la significancia del estudio utilizamos como prueba estadística el análisis de la varianza (ANOVA) que nos indica que es altamente significativo (0.000) y la prueba de Tukey nos determinó que todas las medias son distintas siendo la más alta, la del fármaco, seguido de la concentración al 100% del extracto etanólico y la media más baja fue de la concentración al 25%.

2.6 Aspectos Éticos

Las normas de bioseguridad y el cuidado del medio ambiente fueron respetadas por el personal dentro y fuera del laboratorio, todo esto para llevar de manera correcta la realización del estudio. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud se consideró los protocolos establecidos para el tratamiento correcto del material con poder infeccioso, así como también el cuidado de las personas para no exponerlas al peligro.³²

III. RESULTADOS

A continuación, presentamos los resultados del estudio Eficacia antimicrobiana del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* comparado con ampicilina sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 en un estudio *in vitro*.

TABLA N°1

Promedio de los halos inhibitorios formados por el extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* y ampicilina aplicados sobre *Lysteria monocytogenes* ATCC19118 en un estudio *in vitro*

HALOS DE INHIBICIÓN								
TRATAMIENTO	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
ampicilina	13	24.77	1.013	0.281	24.16	25.38	22	26
Extracto etanólico de <i>Uncaria tomentosa</i> al 25%	13	8.77	0.725	0.201	8.33	9.21	8	10
Extracto etanólico de <i>Uncaria tomentosa</i> al 50%	13	12.23	1.013	0.281	11.62	12.84	10	14
Extracto etanólico de <i>Uncaria tomentosa</i> al 75%	13	13.85	1.144	0.317	13.16	14.54	12	16
Extracto etanólico de <i>Uncaria tomentosa</i> al 100%	13	16.31	0.947	0.263	15.74	16.88	15	18
Total	65	15.18	5.505	0.683	13.82	16.55	8	26

TABLA N°2

Prueba de ANOVA empleada para la comparación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* y ampicilina sobre *Listeria monocytogenes*.

ANOVA					
INHIBICIÓN					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1882.400	4	470.600	492.048	0.000
Dentro de grupos	57.385	60	0.956		
Total	1939.785	64			

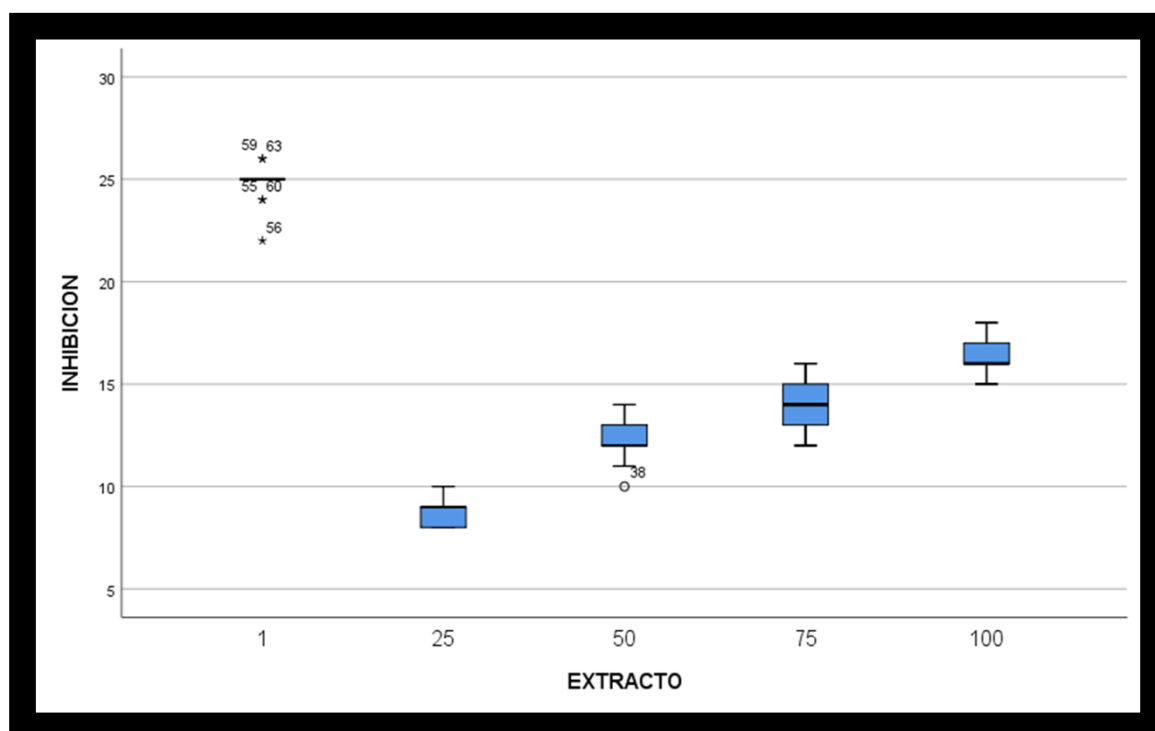
TABLA N°3

Prueba post Tukey empleada para la comparación de medias

INHIBICIÓN						
HSD Tukey ^a						
EXTRACTO ETANÓLICO	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
25%	13	8.77				
50%	13		12.23			
75%	13			13.85		
100%	13				16.31	
ampicilina 10ug	13					24.77
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

FIGURA N°1

Diagrama de cajas y bigotes que representa los datos numéricos de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano formado por la ampicilina y el extracto etanólico de *Uncaria tomentosa*.



IV. DISCUSIÓN

La medicina tradicional sigue siendo utilizada en nuestro país, las creencias de nuestros antepasados siguen vigentes en los hogares peruanos y con bastante aceptación, incluso en algunas regiones muy por encima de la medicina científica. La fitoterapia es una de las más utilizadas seguida de la trofoterapia, esto según Mejía JA. et al³³ que demostró mediante un estudio que el 59% de peruanos hacen uso de la fitoterapia, un 30.9% manifestaron que siempre la utilizan y un 29,7% admitieron usarla en más de la mitad de episodios de enfermedad en sus vidas, y las principales razones para su aceptación es que la población la cataloga como “lo más natural”, de fácil acceso, lo económicas que resultan y que pueden seguir su tratamiento desde la comodidad de su casa.

Esta investigación se hizo con el propósito de demostrar la eficacia antimicrobiana de *Uncaria tomentosa* a diferentes concentraciones del extracto etanólico sobre *Listeria monocytogenes* obteniendo un resultado positivo y confirmando su eficacia como los estudios previos que realizaron Navarro M. et al¹⁷ y Rojas J. et al¹⁸ en los cuales también evidenciaron la actividad bactericida de nuestra planta en estudio en forma de extractos alcohólicos sobre bacterias grampositivas de comportamiento similar a la bacteria que utilizamos.

En la figura N°1 los halos inhibitorios del crecimiento de *Listeria monocytogenes* a diferentes concentraciones son distintos, encontrando que a mayor concentración mayor es el halo inhibitorio. Solo la concentración al 100% del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* con un halo inhibitorio de 16.31 mm logró superar el diámetro mínimo (según el EUCAST²⁸ que es de 16 mm) requerido para validar la eficacia antimicrobiana, pero no logró alcanzar el halo inhibitorio de 24.77 mm de la ampicilina la cual utilizamos como control positivo por ser uno de los tratamientos de elección sobre la listeriosis y sobre bacterias grampositivas.

El estudio que realizó Tucto CE²¹, fue para determinar el efecto antimicrobiano del extracto alcohólico de *Uncaria tomentosa* sobre *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii*, utilizó concentraciones al 0.5%, 1%, 2%, 5%, 10% y el valor mínimo inhibitorio fue de 2 mm. Sus resultados fueron que todas las concentraciones presentaron actividad antimicrobiana contra *L. monocytogenes* y que, a mayor concentración, mayor fue el halo inhibitorio, las concentraciones al 0.5%, 1% y 2% no presentaron mayores diferencias con respecto a sus halos inhibitorios, pero si las concentraciones al 5% y 10% en los

cuales se evidenció diferencia significativa. En cambio, sobre *L. ivanovii* solo las concentraciones al 2%, 5% y 10% presentaron efecto inhibitorio. Usaron como control positivo ciprofloxacino, gentamicina y cotrimoxazol, obteniendo halos de mayor diámetro superiores al extracto de la planta utilizada.

En comparación a nuestro estudio, presentamos diferencias en el porcentaje de cada concentración pero similitud en cuanto a la técnica de maceración empleada para la obtención del extracto, nuestra referencia que determinaba si era eficaz o no el extracto fue de 16 mm en cambio en el otro estudio fue de 2 mm el valor requerido, por lo cual al tener diferencias en esto dos puntos, también se tendrá en los halos de inhibición y esto se confirma ya que nuestro halos inhibitorios fueron superiores y que a mayor concentración mayor fue el diámetro inhibitorio del halo y tendría relación con la cantidad de componentes que presenta la uña de gato, ya que mientras la concentración sea más pura sin disolventes, aumenta el contenido de alcaloides, triptenos, flavonoides y taninos, sustancias activas presentes que hacen posible su efecto antimicrobiano inhibiendo las enzimas bacterianas, modifican la membrana celular bacteriana y disminuyen los iones esenciales para el metabolismo bacteriano.¹⁶

El control positivo utilizado en ambos estudios fueron diferentes fármacos, cada uno con distinto mecanismo de acción a diferente nivel celular, pero siendo la ampicilina el que mayor diámetro de halo inhibitorio obtuvo superando a los demás como la gentamicina, ciprofloxacino y cotrimoxazol; nos llama la atención ya que el cotrimoxazol es el fármaco de primera línea contra la *L. monocytogenes*, pero que no logró superar a la ampicilina, esto quizás se deba por la cantidad del fármaco utilizado, que dicho sea de paso, en el estudio de referencia no lo menciona, como tampoco de los demás fármacos usados; esta puede ser la principal razón ya que si tomamos de referencia los valores del Breakpoint Tables v8.1 del EUCAST²⁸, nos indica que el cotrimoxazol tiene que superar los 29 mm para ejercer efecto inhibitorio sobre *L. monocytogenes*, muy distante de los 2 mm que tiene como valor referencial el estudio de Tucto CE²¹.

Otro estudio realizado por Floreano ML²⁰ en el cual también utilizó la uña de gato como extracto hidroalcohólico sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Preparó concentraciones al 3%, 6% y cefalexina como control positivo. Demostró que la uña de gato presentó actividad antimicrobiana en las dos concentraciones con un halo inhibitorio de 14.8 mm al 3% y de 12.1 mm al 6%, encontrando que al 3% el diámetro es mayor pero que no existe diferencia con el control positivo ya que presentaron el mismo halo

inhibitorio. En cuanto al efecto bactericida sobre *Escherichia coli* los resultados fueron negativos, no encontrando actividad inhibitoria de la uña de gato sobre esta bacteria, por lo cual concluyen que la actividad antimicrobiana solo es para la bacteria grampositiva.

En relación a nuestro estudio, las concentraciones fueron distintas, los fármacos fueron distintos, pero con similar mecanismo de acción, solo experimentamos en un microorganismo patógeno el cual fue también fue diferente, pero con características similares ya que ambos pertenecen al grupo de los grampositivos, no usamos ningún microorganismo gramnegativo. Los diámetros inhibitorios son casi similares con las concentraciones al 75% y 100%, que si los aplicamos sobre la bacteria de dicho estudio también presentarían efecto bactericida, y esto se debe a que ambos microorganismos pertenecen al grupo de las grampositivas y comparten características similares.

La estructura de la pared bacteriana es similar pero la diferencia está en que *L. monocytogenes* tiene la capacidad de sobrevivir a distintas temperaturas, pH alto o bajo y produce una toxina llamada estereolisina O responsable de su poder invasivo y virulento además de producir enzimas las cuales la protegen de la oxidación fagolisosómica; en cambio *Staphylococcus aureus* no posee estas características lo que la hace un poco más vulnerable. Por todo esto se asume que los halos inhibitorios de nuestras concentraciones al 75% y 100% son parecidas a la concentración al 3% y a cefalexina usadas en el otro estudio, concluyendo que también poseen acción bactericida sobre *S. aureus*. No obstante, las concentraciones al 3%, 6% y la cefalexina no serían eficaces contra *L. monocytogenes* a pesar que usaron el mismo extracto. Esto nos da entender que la cantidad de los componentes de la uña de gato en cada concentración influye en su efecto bactericida y también los factores de virulencia de cada microorganismo.

Estos estudios avalan nuestra investigación y confirman la existencia del efecto antimicrobiano de la uña de gato sobre bacterias grampositivas, corroboran que las plantas medicinales si presentan acción antibacteriana y certifican que la medicina tradicional usada por nuestra población puede ser utilizada para combatir diferentes microorganismos patógenos y son una alternativa económica y accesible para el tratamiento de diversas afecciones.

V. CONCLUSIONES

- Se demostró la eficacia antimicrobiana el extracto etanólico de *Uncaria tomentosa*.
- La concentración al 100% del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* es la única que presenta eficacia antimicrobiana sobre *Listeria monocytogenes*.
- Las concentraciones al 25%, 50%, 75% del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* no lograron presentar eficacia antimicrobiana.
- El extracto etanólico al 100% de la uña de gato no logró superar el diámetro del halo inhibitorio formado por la ampicilina, pero aun así logró presentar efecto antimicrobiano.
- Hubo diferencia significativa entre los halos inhibitorios formados por el extracto al 100% y la ampicilina.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios en aceite esencial, extracto acuoso u otro tipo de solución a base de *Uncaria tomentosa*, para comparar con el extracto etanólico y determinar la capacidad antimicrobiana sobre otros microorganismos patógenos.
- Evaluar el efecto de los extractos de uña de gato mediante el método de dilución en caldo, para establecer la concentración inhibitoria mínima y concentración bactericida mínima de *Uncaria tomentosa* necesaria para la inhibición de *Listeria monocytogenes* y demás bacterias grampositivas.
- Evaluar los extractos de uña de gato sobre diferentes bacterias *in vivo* con animales para valorar su efectividad, toxicidad y así poder obtener una dosis terapéutica humana.

VII. REFERENCIAS

1. OMS. Listeriosis [Nota de prensa]. Febrero de 2018 [Consultado: 13 de julio 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/listeriosis/es/>
2. Pérez ME, Salazar ME. y Gamarra G. Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en salchichas tipo huacho provenientes de los mercados de abasto del cercado de Lima. Ciencia e Investigación 2013; 16(2): 68-72. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/viewFile/9959/8736>
3. Díaz M.A. *Listeria monocytogenes* en leche y queso fresco, como vehículos de transmisión de listeriosis humana en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010. [Tesis Doctoral]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2013. Disponible en: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:xZ7iPf7fg5YJ:dspace.untru.edu.pe/handle/UNITRU/5501+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=pe>
4. Riega R.PSA. Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en canales de bovino beneficiados en un camal de Lima y destinados a consumo humano directo. [Tesis de Título Profesional]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2015. Disponible en: <http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/422>
5. Tehrani F, Sadeghi E. Effect of Mint Essential Oil on Growth of *Listeria monocytogenes* during the Ripening and Storage of Iranian White Brined Cheese. J. Appl. Environ. Biol. Sci. 2015; 5(7S): 150-154. Disponible en: <http://jfqhc.ssu.ac.ir/article-1-226-en.pdf>
6. Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control 2007; 18(5): 4114-420. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/223787706_Inhibitory_effects_of_selected_plant_essential_oils_on_the_growth_of_four_pathogenic_bacteria_E_coli_O157H7_Salmonella_Typhimurium_Staphylococcus_aureus_and_Listeria_monocytogenes

7. Tosun ŞY, Alakavuk DÜ, Ulusoy Ş, Erkan N. Effects of essential oils on the survival of *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on fresh Atlantic salmon (Salmo salar) during storage at 2±1°C. J Food Saf. 2017; 38(1): 1-6. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jfs.12408>
8. Cadena KB, Pazán P, Farfán A. Efecto antifúngico de diferentes concentraciones del extracto de *Uncaria Tomentosa* sobre *Candida albicans*: Estudio in vitro. Odontología. 2017; 19(2): 30-39. Disponible en: <http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/ODONTOLOGIA/article/view/136>
9. Urrutia DJ. Evaluación del efecto del extracto de *Uncaria tomentosa* en la respuesta inmune humoral en ratones expuestos a ovoalbúmina e inmunoglobulina G humana como antígeno. [Tesis de Título Profesional]. Valdivia: Universidad Austral de Chile; 2012. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fvu.81e/doc/fvu.81e.pdf>
10. Navarro M, Alvarado D, Moreira I, Arnaez E, Monagas M. Polyphenolic Composition and Antioxidant Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts from *Uncaria tomentosa* Bark and Leaves. Antioxidants. 2018; 7(5): 1-18. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/325115023_Polyphenolic_Composition_and_Antioxidant_Activity_of_Aqueous_and_Ethanolic_Extracts_from_Uncaria_tomentosa_Bark_and_Leaves
11. Núñez C, Lozada I, Tíndara Y, Zegarra D, Saldaña F, Aguilar J. Inmunomodulación de *Uncaria tomentosa* sobre células dendríticas, IL12 y perfil TH1/TH2/TH17 en cáncer de mama. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2015; 32(4): 643-51. Disponible en: <http://www.rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/1753/1721>
12. Vega M. Etnobotánica de la Amazonía Peruana. Quito: Ediciones Abya-Yala; 2001. Disponible en: http://digitalrepository.unm.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1306&context=abya_yala
13. Gomes IC, Betoni BW y Soares AM. *Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis* an agronomic history to be written. Ciência Rural. 2016; 46(8): 1401-10. Disponible

en:http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782016000801401&script=sci_abstract

14. Schauss AG. Cat's Claw (*Uncaria tomentosa*). Natural Medicine Journal. 1998; 1(2): 16-19. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/236835025_Cat%27s_Claw_Uncaria_tomentosa?enrichId=rgreq-d70652911a5ab8c286d4ee6c21e4a6dc-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzIzNjgzNTAyNTtBUzoxMDA0OTg3NTM0NTgxNzZAMTQwMDk3MjE3ODIxOQ%3D%3D&el=1_x_2&esc=publicationCoverPdf
15. Chauhan R, Singh V, Bajaj H y Chauhan SB. Cat's claw: A miracle herb from the rain forest of Perú. Indian Journal of Drugs, 2015; 3(4): 96-101. Disponible en: <http://drugresearch.in/pdf/dec2015/IJOD-16-seema.pdf>
16. Sá DS, Rufino LRA, Ribeiro GE y Fiorini JE. Antimicrobial activity of uncaria tomentosa (Willd) DC. Rev. ciênc. farm. básica apl. 2014; 35(1): 53-57. Disponible en: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:N-bo-DgK0eMJ:serv-bib.fcpar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/download/2586/1509+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe
17. Navarro M, Lebrón R, Quintanilla JE, et al. Proanthocyanidin Characterization and Bioactivity of Extracts from Different Parts of *Uncaria tomentosa* L. (Cat's Claw). Antioxidants 2017; 6(1): 1-18. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5384175/pdf/antioxidants-06-00012.pdf>
18. Rojas Ja, Velasco J, Buitrago A, Mender T, Rojas Jo. Evaluación de la actividad antimicrobiana de plantas medicinales seleccionadas del Jardín Botánico del Orinoco, municipio Heres, Estado Bolívar. Rev Fac Farm. 2016; 58(1): 2-10. Disponible en: http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/42920/articulo_1.pdf?sequence=2&isAllowed=y
19. Ccahuana-Vasquez RA, Santos SSF, Koga- Ito CY, Jorge AOC. Antimicrobial activity of *Uncaria tomentosa* against oral human pathogens Braz Oral Res 2007;

- 21(1): 46-50. <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/69482/2-s2.0-34147188751.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
20. Floreano ML. Efecto de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Uncaria tomentosa* en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis de Maestría]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2017. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10585>
21. Tucto CE. Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Uncaria tomentosa* en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii*. [Tesis de Título Profesional]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2014. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4221/Tucto%20Rodriguez%20Cynthia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
22. Ashar BH and Dobs A. Clinical trials for herbal extracts. En: L Packer NC Ong and B Halliwell (editores). Herbal and Traditional Medicine Molecular Aspects of Health. New York: Marcel Dekker; 2004. p. 53–72. Disponible en: https://kupdf.net/download/herbal-and-traditional-medicine_5b095068e2b6f58773cce3c8_pdf
23. Wu S, Wu Q, Zhang J, Chen M, Yan Z y Hu H. *Listeria monocytogenes* Prevalence and Characteristics in Retail Raw Foods in China. PLoS ONE. 2015; 10(8): 1-16. Disponible en: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0136682>
24. Ferreira V, Wiedmann M, Teixeira P y Stasiewicz MJ. *Listeria monocytogenes* Persistence in Food-Associated Environments: Epidemiology, Strain Characteristics, and Implications for Public Health. J. Food Prot. 2014; 77(1): 150-170. Disponible en: <http://jfoodprotection.org/doi/abs/10.4315/0362-028X.JFP-13-150?code=FOPR-site>
25. Doyle E. Virulence Characteristics of *Listeria monocytogenes* [Documento en Internet]. Octubre 2001. FRI Briefings, University of Wisconsin-Madison. Disponible en: https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/virulencelmono.pdf
26. Marcén JJ. Antimicrobianos naturales. Medicina Naturista. 2000; 2: 104-108. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/202443.pdf>

27. Sánchez B y Palencia E. Infecciones por *Listeria*. Medicine. 2010; 10(50): 3368-72. Disponible en: http://uiip.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Listerias_Medicine2010.pdf
28. Ryan KJ y Ray CG. Microbiología Médica de Sherris. 5ta. Edición. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana Editores, S. A. de C. V.; 2011. Disponible en: https://onlyfastcom.files.wordpress.com/2017/02/sherris_microbiologia_medica_5edi_ryan.pdf
29. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, 2018. Disponible en: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf
30. Carrión AV y García CR. Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica. [Tesis de titulación]. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca; 2010 [Citado: 2 de julio de 2018]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>
31. CLSI. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. 3ra ed. CLSI guideline M45. Wyne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016. Disponible en: https://clsi.org/media/1450/m45ed3_sample.pdf
32. Organización Mundial de la Salud – OMS. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ra. Edición. Ginebra: Ediciones de la OMS; 2005. Disponible en: http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf
33. Revista peruana de medicina integrativa [publicación periódica en línea] 2017; 2(1): 47-57. Disponible en: <https://www.rpmi.pe/ojs/index.php/RPMI/article/view/44>

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

Identificación taxonómica de *Uncaria tomentosa* o “uña de gato”



ANEXO 2

Obtención del extracto etanólico de uña de gato

La corteza de la uña de gato fue puesta en un horno a 40-45°C por 2 días donde se deshidrató completamente. Después, se estrujaron manualmente hasta obtener partículas muy pequeñas para luego almacenarlas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).



Corteza de tallo de *Uncaria tomentosa*



Secado en el horno

Se colocó en un frasco de vidrio 20 g de MS y 100 ml de alcohol etílico 96°, se llevó a una estufa a 40°C por 8 días con agitación constante. Después, se hizo una doble filtración. Primero a través de una gasa estéril y segundo a través de un papel filtro Whatman N°41. Este filtrado, se regresó a la estufa por 2 días más, hasta que el filtrado se evaporó, casi en su totalidad. De este modo, se obtuvo el extracto etanólico (EE) considerado al 100%; el cual, se reservó en un frasco de vidrio ámbar a 4°C hasta su utilización.



Pesado de la muestra



Proceso de maceración



Filtrado para la obtención del extracto etanólico

Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se procedió según el Estándar M45 del CLSI y se consideró los criterios de los Breakpoint Tables v8.0. del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) de Europa.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Listeria monocytogenes*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml).

b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Listeria monocytogenes*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

c) Preparación de las concentraciones del EE

A partir del EE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 µL de EE y 250 µL de DMSO al tubo de 75%, 500 µL de EE y 500 µL de DMSO al tubo de 50%, y 250 µL de EE y 750 µL de DMSO al tubo de 25%.

Preparación de los discos de sensibilidad con EE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 µL en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 µL de EE al 25% y se colocó en un disco, 10 µL de EE al 50% en otro disco, 10 µL de EE al 75% en otro disco y 10 µL de EE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 13 veces.

d) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con EE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Listeria monocytogenes*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con ampicilina 10µg (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se invirtieron y llevaron a la incubadora a 35-37°C por 18-20 horas.

e) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de EE de *Uncaria tomentosa* y para la ampicilina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido por los criterios del EUCAST.



(a)



(b)



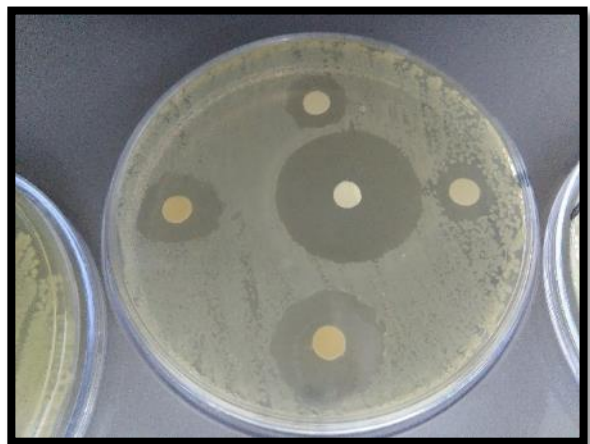
(c)



(d)



(e)



(f)

ANEXO

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS						
ZONA DE INHIBICIÓN (mm)						
Nº	Extracto de Uña de gato				Ampicilina	DMSO
	100%	75%	50%	25%		
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						

ANEXO

**San Jose**
LABORATORIO CLINICO
Calidad y profesionalismo al servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde el Sr. KEY SAMIR AUMA CUSILAIME, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* comparado con ampicilina sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 19118: en un estudio *in vitro*", durante los días 13 al 20 de enero de 2020, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 24 días del mes de enero de 2020.


José Luis Colla Guerrero
DECUOQ - MICROBIOLOGO
C.R.P. 9301
Gerente General

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - ☎ 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com @ www.sanjoselabs.amawebs.com/



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 29-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que Key Samir Auma Cusilaime, egresado de la carrera profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

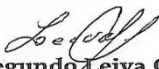
Uncaria tomentosa (Willd. ex Schult.) DC. (Rubiaceae)

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Eficacia antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* comparado con ampicilina, sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 19118".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 6 de agosto de 2018




Mg. Segundo Leiva González
Director
Museo de Historia Natural y Cultural



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO



FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ÉTICOS							
	CONTENIDO (Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)		CONSTRUCTO (Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)		RELEVANCIA (El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)		COHERENCIA INTERNA (El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)		CLARIDAD (El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)		SUFICIENCIA (Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	X		X		X		X		X		X	
2	X		X		X		X		X		X	
3	X		X		X		X		X		X	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ÉTICOS				SI	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos				X		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación				X		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial				X		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiere los ítems a añadir				X		
VALIDEZ						
APLICABLE		NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN		
X						

Validado por:

Fecha

05- mayo -2020

Jaime Polo Gamboa
DAVID GARCIA CEDRON
José Luis Fernández Soray



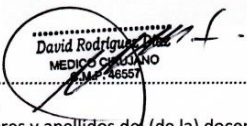
UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD TRABAJO ACADÉMICO

Yo, David Rene Rodríguez Díaz
 docente de la Facultad Alberca de la Salud y
 Escuela Profesional Medicina de la Universidad César Vallejo Trujillo
 (precisar filial o sede), revisor (a) de la tesis titulada
 " Eficacia analéptica del extracto etanólico de
Uncaria tomentosa comparado con ampicilina
Serie GITHS. Monocytogal, ATCC 19118 en un
estudio in vitro ",
 del (de la) estudiante Key Samir Aume Cusalaume
 constato que la investigación tiene un índice de
 similitud de 15.1% verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las
 coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la
 tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas
 por la Universidad César Vallejo.

Lugar y fecha. Trujillo 13 de mayo del 2020


 David Rodríguez Díaz
 MEDICO CIRUJANO
 C.O.P. 46557
 Firma
 Nombres y apellidos del (de la) docente
 DNI: 42289014

ANEXO

feedback studio

Samir Key AUMA CUSILAIME | tesis Uncaria tomentosa 0

?

UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* comparado con ampicilina sobre *Enteria monocytogenes* ATCC 19118 en un estudio *in vitro*

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

AUTOR

Key Samir Auma Cusilaime (ORCID: 0000 - 0002 - 6125 - 7106)

ASISOR

Mgr. Jaime Abelardo Polo Garzon (ORCID: 0000 - 0002 - 3768 - 8051)
Mgr. José Luis Fernández Sosaya (ORCID: 0000 - 0002 - 8232 - 8267)
Dr. Anibal Manuel Morillo Arqueos (ORCID: 0000 - 0001 - 5179 - 8110)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

Trujillo - Perú

2020

15

Resumen de coincidencias

X

15 %

<

>

1

Entregado a Universida...

13 %

>

Trabajo del estudiante

2

Entregado a Universida...

1 %

>

Trabajo del estudiante

3

repositorio.ucv.edu.pe

<1 %

>

Fuente de Internet

4

reliefweb.int

<1 %

>

Fuente de Internet

5

Christian Brecher, Manf...

<1 %

>

Publicación

6

www.gov.uk

<1 %

>

Fuente de Internet



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS
EN REPOSITORIO INSTITUCIONAL UCV

Yo Key Samir Auma Cuilaima identificado con DNI N° 70748130, egresado de la Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo, autorizo ☒ No autorizo () la divulgación y comunicación pública de mi trabajo de investigación titulado Epinefrina antitumoral del extracto etanólico de Uraria tomentosa, personalo con ginseng y sobre la línea monocitogénica HEC-12118: un caso de estudio in vitro en el Repositorio Institucional de la UCV (<http://repositorio.ucv.edu.pe/>), según lo estipulado en el Decreto Legislativo 822, Ley sobre Derecho de Autor, Art.23 y Art. 33

Fundamento en caso de no autorización

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Firma

DNI 70748130FECHA: 13 de marzo del 2020



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

AUTORIZACIÓN DE LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CONSTE POR EL PRESENTE EL VISTO BUENO QUE OTORGA EL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN DE
La Escuela Profesional de Medicina.

A LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

Key Samir Auma Cusilaime

INFORME TITULADO:

“Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa*
comparado con ampicilina sobre *Listeria monocytogenes* ATCC
19118: en un estudio in vitro”.

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

SUSTENTADO EN FECHA: 13 de Marzo del 2020.

NOTA O MENCIÓN: 16 (Dieciséis).



DAVID RENE RODRIGUEZ DIAZ
ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN